

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
9. Jg., S. 242—244, Mai 1971

Zur Frage der Beeinflussung der Fettsäure-Zusammensetzung der Leber- und Depotlipide durch orale Antidiabetika

Von K. BERNHARD und ELISABETH SPRENG

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Basel

(Eingegangen am 27. Januar 1971)

Gaben von n-Butylbiguanid und Tolbutamid mit einem normalen Futter während 5 Wochen an junge Ratten führten zu keiner Beeinflussung der Gewichtszunahmen. Neutralfette und Phosphatide aus der Leber zeigten gegenüber den Kontrollen keine veränderte Fettsäure-Zusammensetzung. Dasselbe trifft zu für die Fettsäuren aus dem paraepididymalen, dem Nierenkapsel- und dem Herzkranzfurchen-Fettgewebe.

The effect of oral hypoglycaemic agents on the fatty acid composition of liver- and depot-lipids in rats

The administration of n-butylbiguanide and tolbutamide in a normal diet for 5 weeks had no effect on the growth rate. Neutral fats and phosphatides from the liver showed no changes in fatty acid composition compared to controls. The same was true of fatty acids from paraepididymal, kidney capsule and epicardial adipose tissues.

Die Wirkungsmechanismen oraler Antidiabetika sind nur teilweise bekannt. Direkte Einflüsse solcher Verbindungen auf den Fettstoffwechsel werden vermutet, Veränderungen der freien Fettsäuren im Blut oder Beeinflussung der Lypolyse im Fettgewebe von verschiedenen Autoren mitgeteilt.

Eine Beeinflussung des Fettsäurestoffwechsels im Sinne einer Aktivierung oder Hemmung der für die Fettsäuresynthese verantwortlichen Enzymsysteme, also der de novo-Synthese im Cytoplasma oder der Kettenverlängerung in den Mitochondrien könnte sich vor allem in der Fettsäure-Zusammensetzung der Leberlipide äußern. Wir versuchten festzustellen, ob bei Ratten nach länger dauernder Verabreichung von n-Butylbiguanid und Tolbutamid Änderungen im Fettsäurespektrum nicht nur der Phosphatide und Neutralfette der Leber, sondern auch einiger Fettgewebe eintreten. Wir haben also auch das paraepididymale Fettgewebe, das der Nierenkapsel und solches aus der Herzkranzfurche in unsere Untersuchung einbezogen.

Experimentelles

Wir fütterten jungen männlichen Wistar-Ratten im Gewicht von 190 g in Einzelkäfigen täglich 18 g Altromin-R-Diät. Sie wies folgende Zusammensetzung auf: Rohprotein 20%, Wasser 11%, Asche 6%, Rohfaser 5%, Kohlenhydrate 54%, Fette 4% (Fettsäure-Zusammensetzung: 16:0 = 21%, 18:1 = 32%, 18:2 = 31%), Salze und Vitamine. Während 36 Tagen verabreichten wir an je 7 Tiere täglich etwa 40 mg/kg und Tag n-Butylbiguanid bzw. 100 mg/kg und Tag Tolbutamid. Beide Verbindungen wurden in Traganthlösung suspendiert und in zwei Rationen morgens und abends, um ihre quantitative Aufnahme zu gewährleisten, mit der Schlundsonde appliziert. Gleichzeitig mit demselben Futter ernährte 7 Kontrolltiere erhielten in analoger Weise lediglich Traganthlösung. Jedes Tier wurde dreimal wöchentlich gewogen und sein Futterkonsum bestimmt. Nach Beendigung der ohne jegliche Störungen verlaufenden Versuche betrug das mittlere Gewicht der Versuchstiere 299 bzw. 301 und das der Kontrollen 304 g. Wir töteten am 37. Tag alle

21 Ratten und entfernten die Lebern. Das paraepididymale Fettgewebe, das der Nierenkapsel und der Herzkranzfurche wurde sorgfältig abpräpariert.

Gewinnung und Analyse der Leberlipide

Die gewogenen Lebern wurden zerkleinert und in Chloroform/Methanol (2:1 v/v) mit einem Hochfrequenz-Homogenisator bei gleichzeitiger Zugabe von Ionol (pro 100 mg Lipide 50 µg als 0,1proz. Lösung in Methanol) behandelt. Die weitere Aufarbeitung vollzog sich nach FOLCH und Mitarbeitern (1), die Trennung in Neutralfette und Phosphatide nach BORGSRÖM (2). Alle Fraktionen prüften wir dünnsschichtchromatographisch auf Reinheit. Aus der Tabelle 1 sind die Lebergewichte, die erhaltenen Totallipide in mg und in % bezogen auf das Frischgewicht, ferner die prozentualen Anteile der Totallipide an Phosphatiden und Neutralfetten ersichtlich.

Tab. 1
Gesamtlipide, Phosphatide und Neutralfette der Leber

Tier No.	Leber g	Totallipide		in % der Totallipide	
		mg	%	Neutralfette	Phosphatide
Kontrollen					
1	10,0	580	5,8	21	79
2	10,0	507	5,1	27	73
3	9,0	595	6,6	29	71
4	10,0	520	5,2	24	76
5	9,5	590	6,2	34	66
6	10,5	510	4,9	29	71
7	8,5	550	6,5	27	73
\bar{x}	9,6	550	5,6	27	73
n-Butylbiguanid					
1	10,0	645	6,5	19	81
2	10,5	487	4,7	30	70
3	12,0	412	3,5	21	79
4	10,0	537	5,4	21	79
5	9,0	514	5,7	26	74
6	9,5	446	4,7	18	82
7	11,0	510	4,7	23	77
\bar{x}	10,3	507	5,0	23	77
Tolbutamid					
1	10,0	503	5,0	23	77
2	8,5	565	6,6	33	67
3	12,0	616	5,1	28	72
4	9,0	522	5,8	24	76
5	9,0	527	5,9	28	72
6	10,0	615	6,2	25	75
7	9,0	541	6,0	23	77
\bar{x}	9,6	556	5,8	26	74

Zur gaschromatographischen Analyse müssen die Fettsäuren in Methylester umgewandelt werden, was im Falle der Phosphatide durch direkte Umesterung nach EBERHAGEN (3) erfolgte. Dieses Vorgehen ist gegenüber der Verseifung und nachfolgender Veresterung der freien Fettsäuren viel schonender, was mit aller Deutlichkeit aus einem Vergleich der nach beiden Methoden erhaltenen Ergebnisse (Tab. 2) hervorgeht. Die Polyenfettsäuren 20:4 und 22:6 erleiden durch Verseifung und anschließende Veresterung starke Einbußen.

Tab. 2
Fettsäure-Zusammensetzung der Phosphatide aus den Lebern normaler Ratten
A. nach Verseifung und Veresterung
B. nach direkter Umesterung

Säure	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	20:4	22:6
A \bar{x}	0,8	23,7	2,4	26,5	8,7	16,1	13,7	2,7
s	0,23	2,56	0,38	2,39	0,77	2,54	1,74	0,58
B \bar{x}	0,4	21,1	1,8	24,6	7,5	14,9	17,6	6,9
s	0,11	1,74	0,34	2,34	0,73	1,41	1,83	0,93

Aufarbeitung der Depotfette

Auf die Extraktion dieser Neutralfette wurde verzichtet, wir haben die Proben mit im Falle der Herzkranzfurchenfette stark unterschiedlichen Wassergehalten sofort mit 30proz. methanol. Kalilauge verseift und die freien Fettsäuren unter Verwendung von Bortrifluorid und Methanol verestert (vgl. Tab. 3).

Tab. 3
Erhaltene Fettsäuren in % des Frischgewichtes aus Fettgeweben

	paraepididymal*		Fettgewebe Nierenkapsel**		Herzkranzfurche**	
	Gewicht g	% Fettsäuren	Gewicht g	% Fettsäuren	Gewicht g	% Fettsäuren
Kontrollen	4,05	79	2,28	74	0,43	28
n-Butylbiguanid	4,47	79	2,86	76	0,44	46
Tolbutamid	4,04	88	3,93	80	0,42	60

* Mittelwerte von 7 Tieren

** Mittelwerte von 3 Tieren.

Gaschromatographie

Sie erfolgte mit einem Instrument Perkin Elmer 801. Pyrexglaskolonne (Innendurchmesser 2 mm, Länge 2 m), Füllmaterial: Hyflo 80% (70–80 mesh) mit Säure gewaschen und mit Dimethyldichlorsilan imprägniert. Stationäre Phase 20% Diäthylenglycolsuccinat. Arbeitstemperatur 190°. Detektortemperatur 220°. Sehr kleine Peaks wurden nicht berücksichtigt, d. h. Säuren, die weniger als 0,2% ausmachen, sind in den Tabellen nicht aufgeführt.

Ergebnisse

Junge männliche Ratten erhielten im Verlaufe von 5 Wochen 350 mg n-Butylbiguanid bzw. 870 mg Tolbutamid. Die Nahrungsaufnahme wurde dadurch in keiner Weise beeinflusst, die mittlere Gewichtszunahme der je 7 Tiere betrug 60% wie bei den Kontrollen. Die Lebern wiesen normale Gehalte an Gesamtlipiden auf (vgl. Tab. 1), die zu 77 und 74% aus Phosphatiden bestehen.

Nach BERINGER und Mitarbeitern (4) soll die bei Altersdiabetes bestehende Leberverfettung durch Tolbutamid nicht zurückgehen. Andererseits betonen LANGE, KNICK, KÖSSLING und KREMER (5), daß oralen Antidiabetika auch eine grundsätzliche Be-

deutung für die therapeutische Beeinflussbarkeit der Lipidstoffwechselstörungen bei Diabetes mellitus einschließlich der diabetischen Fettleber zukomme. So beobachtete SCHMITT (6) bei Tolbutamid-Langzeitbehandlung eine Rückbildung hochgradiger Leberverfettungen.

Unsere Versuche ergaben hinsichtlich der Fettsäurezusammensetzung der Leberphosphatide laut Tabelle 4 keine Besonderheiten. Bei allen drei Gruppen sind hohe Gehalte an Polyenfettsäuren erkennbar. Die Werte für die Arachidonsäure (20:4) übertreffen diejenigen der Linolsäure (18:2). Mit 7,8 und 7,0 bzw. 6,9% bei den Kontrollen ist die Docosahexaensäure (22:6) reichlich vertreten. Aus der Tabelle 5 geht ferner hervor, daß

Tab. 4
Zusammensetzung der Fettsäuren der Leber-Phosphatide (Mittelwerte von je 7 Tieren)

Säuren	Kontrollen \bar{x}	s	Butylbiguanid \bar{x}	s	Tolbutamid \bar{x}	s
14:0	0,4	0,11	0,5	0,12	0,5	0,22
16:0	21,1	1,74	22,0	1,94	21,2	1,95
16:1	1,8	0,34	1,4	0,27	1,8	0,23
18:0	24,6	2,34	23,6	0,96	25,5	1,20
18:1	7,5	0,73	6,8	0,49	7,4	0,48
18:2	14,9	1,41	15,2	0,47	14,6	0,76
20:4	17,6	1,83	17,9	1,32	17,6	1,55
22:6	6,9	0,93	7,8	1,09	7,0	1,15

Tab. 5
Zusammensetzung der Fettsäuren der Leber-Neutralfette (Mittelwerte von je 7 Tieren)

Säuren	Kontrollen \bar{x}	s	Butylbiguanid \bar{x}	s	Tolbutamid \bar{x}	s
14:0	1,9	0,56	2,1	0,47	2,2	0,72
16:0	37,8	3,23	37,9	1,68	36,8	1,94
16:1	7,3	1,60	5,7	0,69	6,7	1,11
18:0	4,6	1,04	5,2	0,80	4,8	0,69
18:1	30,5	2,98	27,0	2,31	30,5	1,97
18:2	14,7	1,83	17,6	1,41	15,9	1,16
20:4	1,7	0,79	2,3	0,67	1,7	0,43

die beiden oralen Antidiabetika weder auf die Menge noch die Zusammensetzung der Neutralfette der Leber einen Einfluß haben. Wie bei den Kontrollen ist die Palmitinsäure mit rund 37%, die Ölsäure mit 30 und die Linolensäure mit 16 bzw. 17% vertreten.

Die Fettsäuren des paraepididymalen Fettgewebes (Tab. 6) bestehen gleich denjenigen der Kontrollen zu

Tab. 6
Zusammensetzung der Fettsäuren des paraepididymalen Fettgewebes (Mittelwerte von je 7 Tieren)

Säuren	Kontrollen \bar{x}	s	Butylbiguanid \bar{x}	s	Tolbutamid \bar{x}	s
14:0	2,4	0,28	2,3	0,30	2,4	0,15
16:0	31,4	1,45	31,7	1,70	31,5	2,61
16:1	10,0	1,19	8,3	0,68	9,8	0,70
18:0	3,6	0,19	3,8	0,26	3,6	0,22
18:1	32,2	1,49	32,0	1,00	32,6	1,45
18:2	18,3	2,25	19,5	2,16	17,6	1,30
18:3	1,4	0,33	1,7	0,58	1,7	0,22

je einem Drittel aus Palmitin- und Ölsäure und zu 19,5% bzw. 17,6% aus Linolsäure. Auf diesen verhältnismäßig hohen Gehalt haben wir schon in früheren Arbeiten hingewiesen (7). Das Fettgewebe der Nierenkapsel (Tab. 7) weist bei allen Tieren 34% Pal-

Tab. 7

Zusammensetzung der Fettsäuren aus dem Fettgewebe der Nierenkapsel. (Mittelwerte von je 3 Tieren)

Säure	Kontrollen		Butylbiguanid		Tolbutamid	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
14:0	2,0	0,13	2,4	0,08	2,2	0,16
16:0	33,7	0,56	34,3	0,88	34,0	1,16
16:1	8,1	0,46	6,6	0,85	8,1	0,69
18:0	3,9	0,37	4,5	0,40	4,5	0,29
18:1	34,1	0,75	33,3	0,25	34,0	1,25
18:2	16,3	0,92	17,2	1,13	15,4	1,19
18:3	1,2	0,05	1,3	0,16	1,0	0,08

Tab. 8

Zusammensetzung der Fettsäuren des Fettgewebes der Herzkranzfurche. (Mittelwerte von je 3 Tieren)

Säuren	Kontrollen		n-Butylbiguanid		Tolbutamid	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
14:0	4,9	1,06	4,4	0,54	5,1	1,37
16:0	35,8	0,54	34,6	2,02	33,9	0,48
16:1	8,8	0,98	7,2	1,65	11,1	2,55
18:0	6,9	0,71	7,1	1,07	6,0	1,04
18:1	31,2	1,16	32,1	1,86	32,2	2,03
18:2	9,8	0,42	11,4	2,54	8,9	0,80
18:3	0,9	0,17	1,1	0,36	0,9	0,12
20:4	1,1	0,29	1,2	0,29	0,9	0,36

mitin-, 34% Öl- und 17 bzw. 15% (Kontrollen 16%) Linolsäure auf. Das Fettgewebe der Herzkranzfurche (Tab. 8) enthält im Ausmaße von etwa 1% Arachidonsäure; auch hier ergeben sich gegenüber den Kontrollen keine signifikanten Änderungen.

Unsere Versuche an gesunden Tieren ließen erkennen, daß n-Butylbiguanid bzw. Tolbutamid weder die Lipidbestände der Leber quantitativ beeinflussen, noch die Fettsäurezusammensetzung der Phosphatide und Neutralfette aus derselben oder letztere aus den Depotfetten verändern.

Auf einen 70 kg schweren Menschen übertragen, hätten wir in 36 Tagen rund 80 g n-Butylbiguanid und 203 g Tolbutamid verabreicht. Es ist klar, daß Vergleiche mit diabetischen Probanden nicht zulässig sind. Daß die beiden geprüften oralen Antidiabetika ohne Einfluß auf die unseren Versuchen zu grunde liegenden Parameter blieben, deutet aber nicht darauf hin, daß erstere vor allem in den Lipidstoffwechsel eingreifen.

Literatur

1. FOLCH, J., M. LEES und G. H. SLOANE-STANLEY, J. biol. Chemistry 226, 497 (1957). — 2. BORGSTRÖM, B., Acta physiol. scand. 25, 101 (1952). — 3. EBERHAGEN, D., Z. analyt. Chem. 212, 230 (1965). — 4. BERINGER, A., I. HRABAL, K. IRSIGLER und H. THALER, Dtsch. med. Wschr. 92, 2388 (1967). — 5. LANGE, H. J.,

B. KNICK, F. K. KÖSSLING und G. J. KREMER, Dtsch. med. Wschr. 93, 1412 (1968). — 6. SCHMITT, W., Med. Welt 19, N. F. 1060 (1968). — 7. WAGNER, H., E. SEELIG und K. BERNHARD, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 313, 235 (1958).

Prof. Dr. K. Bernhard
4051 Basel
Vesalgasse 1

KONRAD DORFNER
Ionenaustauscher

3. Auflage

Mit 100 Abbildungen, 27 Tabellen im Text und 1 Tabellenanhang
(mit 19 Tabellen). Oktav. XII, 320 Seiten. 1970. Plastikeinband
DM 58,—

Nach der erweiterten Einführung wird eine ausführlichere Darstellung der verschiedenen Ionenaustauschertypen sowie ihrer Eigenschaften und Prüfmethode gegeben. Besonders über die Verwendung der Ionenaustauscher in der Technik wird im einzelnen berichtet, um den Neuentwicklungen gerecht zu werden. So sind die rechnerische Behandlung und die speziellen Verfahren des Festbettverfahrens, die neuesten Entwicklungen der kontinuierlichen Verfahren, die Wasseraufbereitung mit Ionenaustauschern und die Verwendung der Ionenaustauscher zur Abwasserreinigung, Metallgewinnung, Zuckerherstellung und sonstiger technischer Anwendungen in dem vorgegebenen Rahmen so umfassend wie möglich dargestellt worden. Die übrigen Kapitel wurden nach den neuesten Ergebnissen durchgearbeitet, verbessert und ergänzt.

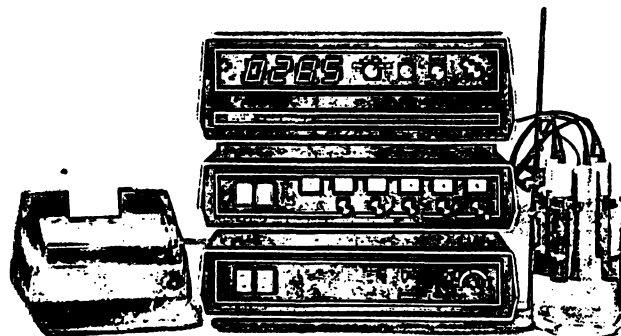
JOHANNES FLÜGGE
**Grundlagen
der Polarimetrie**

Gerätekunde und Meßtechnik

Oktav. Mit 72 Abbildungen und 28 Tabellen. XII, 159 Seiten.
1970. Plastikeinband DM 48,—

Wurde die Polarimetrie bereits seit langem als analytisches Verfahren, z. B. in Zuckerfabriken und in Betrieben der pharmazeutischen Chemie, angewandt, so hat sie sich in neuerer Zeit auch in der Erforschung von Molekülstrukturen als aufschlußreich erwiesen, besonders seitdem es automatische und Spektralphotometer bis ins Ultraviolett gibt. Das vorliegende Werk informiert über Grundlagen, Meßtechnik und moderne Geräte dieser optischen Methode und berücksichtigt ihren Stand bis in die jüngste Zeit, wobei neben der Analytik auch die Bestimmung der Rotationsdispersion, der magneto-optischen Drehung des Lichts und der Elliptizität, wie sie bei Zirkulardichroismus auftritt, besprochen werden. Photoelektrische Polarimeter und Saccharimeter werden ausführlich behandelt.

Walter de Gruyter · Berlin · New York



**Orion
Ionenselektive Elektroden**

Eine neue Technologie zur ionenselektiven Analyse flüssiger Medien. Die Analysensysteme bestehen aus speziellen Elektroden und elektronischen Digital- bzw. Analoggeräten. Es sind damit Einzel- und Simultanbestimmungen von z.B. F^- , Cl^- , CN^- , Na^+ , Ca^{++} , Cu^{++} , $(Ca^{++} + Mg^{++})$ möglich. Das Verfahren ist leicht zu handhaben und methodisch erprobt.

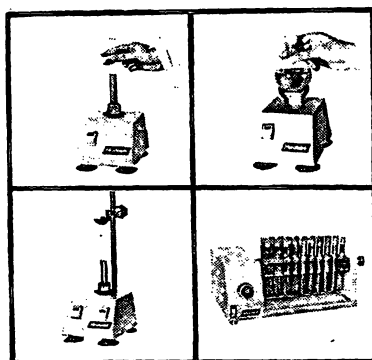
Alleinvertretung für Deutschland:

Colora Messtechnik GmbH
7073 Lorch/Württ., Postfach 5
T (07172) 6041, FS 07-248 886

Technische Büros (Verkauf und Kundendienst):
1000 Berlin 30, Kurfürstenstraße 84, T 13 52 00
2000 Hamburg 19, Osterstraße 63, T 40 06 06, FS 02-12947
3000 Hannover, An der Tiefenriede 45, T 88 45 00
4000 Düsseldorf, Kronprinzenstr. 62, T 1 78 60, FS 08-587 253
6000 Frankfurt a.M., Röderbergweg 4-6, T 44 60 31, FS 04-11216
8000 München 2, Dachauer Straße 175, T 516 98 58

colora

**Nicht alles was
wackelt, ist ein
funktionssicheres
und
wartungsfreies
Misch- und
Schüttelgerät -
daraus sollten Sie
sich mit uns in
Verbindung
setzen, wenn Sie
auf diesem
Gebiet
Probleme haben.**



Wir können Ihnen sicher helfen, diese Probleme zu lösen. Unsere Reax-Geräte haben sich in der Praxis bewährt. Sie sind technisch voll ausgereift, außerordentlich leistungsfähig, funktionssicher und außerdem wartungsfrei. Unser Programm umfaßt Ein- und Mehrfach-Mischgeräte für die verschiedensten Einsatzmöglichkeiten. Bitte fordern Sie Prospektmaterial an.

Unser Fertigungsprogramm umfaßt außerdem: Rührer, Magnetrührer, Verdampfer, Pumpen, Thermostate, Spalt-pol- und Kondensatormotoren, Stirnrad- und Schneckengetriebe, stufenlos regelbare Getriebe, Gebläse. Einen ausführlichen Katalog halten wir für Sie bereit.

Heidolph

Heidolph-Elektro KG
D 8420 Kelheim/Germany
Tel. 0 94 41 / 75 33, Telex 06 5415d

Es liegt vor:

DE GRUYTER LEHRBUCH



Buddecke

Grundriß der Biochemie

für Studierende der Medizin,
Zahnmedizin und Naturwissenschaften

Von Prof. DR. ECKHART BUDDECKE

2. Auflage

Mit mehr als 400 Formeln, Tabellen und Diagrammen

XXXII, 499 Seiten. 1971. Plastik flexibel DM 27,50

Die progressive Zunahme des biochemischen Fachwissens erfordert eine überschaubare und zusammenfassende Darstellung der Biochemie als Hilfsmittel für den Unterricht. Der Grundriß der Biochemie von E. Buddecke gliedert den Wissensstoff in die Kapitel „Stoffe und Stoffwechsel“, „Stoffwechselregulation“ und „Funktionelle Biochemie der Organe und Gewebe“ mit dem Ziel, durch knappe Darstellung gesicherter Fakten und gezielte Stoffauswahl dem Leser einerseits eine rasche Information zu bieten, andererseits jedoch auf die vielfältigen Beziehungen und Anwendungsmöglichkeiten der Biochemie zur klinischen Chemie und Molekularpathologie hinzuweisen, um damit dem Studierenden der Medizin und Zahnmedizin sowie der anderen Gebiete der Naturwissenschaften das Verständnis klinischen Fachwissens zu erleichtern.

Inhaltsübersicht

Stoffe und Stoffwechsel

Chemische Zusammensetzung und Stoffwechsel der Zelle • Der Stoffwechsel als chemische Reaktionsfolge • Enzyme • Coenzyme • Aminosäuren • Nucleinsäuren • Proteine • Glucose und Kohlenhydrate • Lipide • Citratzyklus und biologische Oxydation • Porphyrine • Wasserhaushalt • Mineralhaushalt

Stoffwechselregulation

Selbstregulation durch Rückkopplung • Regulation durch Metabolitkonzentrationen • Enzymkonkurrenz • Hormone • Einführung • Glanduläre Hormone • Gewebshormone

Vitamine

Definition und Klassifizierung • Vitamine mit Coenzymfunktion • Vitamine ohne Coenzymfunktion • Vitaminähnliche Wirkstoffe

Funktionelle Biochemie der Organe und Gewebe

Biochemie der Zelle • Blut • Leber • Verdauung und Resorption • Niere und Urin • Muskel • Nervengewebe • Binde- und Stützgewebe • Wachstum und Abwehr



Walter de Gruyter • Berlin • New York